

Estado Sanitário de Árvores Urbanas e sua Relação com a Disseminação Aérea de Fungos

Ana Paula Ramos, Rita Moreira, Maria Filomena Caetano, André Fabião e António Fabião

UTL. Instituto Superior de Agronomia. Tapada da Ajuda, 1349-017 LISBOA

Resumo. A ocorrência de doenças em árvores urbanas é um dos principais constrangimentos técnicos e económicos na gestão do património arbóreo. O conhecimento do estado sanitário das árvores e a possibilidade de monitorizar a ocorrência de determinados patógenos, constituem importantes instrumentos para o estabelecimento de critérios de selecção, gestão e manutenção das árvores urbanas. Neste contexto, procurou-se estudar a relação entre o estado fitossanitário de árvores e o transporte aéreo de fungos, sendo o local deste estudo o Jardim do Campo Grande, caracterizado por possuir grande diversidade de espécies e estar situado numa zona com elevada poluição atmosférica. Para o efeito procedeu-se à amostragem semanal da concentração aérea de esporos recorrendo a um capturador atmosférico do tipo Hirst e, paralelamente, capturaram-se esporos através de lâminas-armadilha. Detectaram-se fungos potencialmente fitopatogénicos e diversos fungos referenciados na bibliografia como potencialmente alergisantes. Registou-se ainda uma relação entre a captura de esporos pelos dois métodos e a ocorrência de doenças no arvoredo do Jardim.

Palavras-chave: alergias, doenças das plantas, esporos, Lisboa

Introdução

Os estudos epidemiológicos são determinantes para a Patologia Vegetal, tendo enorme impacto no campo da Protecção das Plantas ao permitirem estudar a correlação, ao longo do tempo, entre variáveis como as condições climáticas, a concentração aérea de esporos e a incidência ou severidade de determinadas doenças numa dada área, de forma a estabelecer um plano adequado de protecção e gestão (AGRIOS, 2005). Deste modo, a detecção e a identificação de inóculo aéreo de fungos fitopatogénicos são fundamentais para o conhecimento da epidemiologia das doenças das plantas, em particular quando se trata de micoses cuja disseminação ocorre por dispersão aérea de esporos (STRANGE, 2003).

Alguns dos fungos responsáveis por doenças economicamente importantes em agricultura e florestas são também patogénicos em essências ornamentais e, em particular, em espécies arbóreas utilizadas em ambiente urbano. Embora as características essenciais da interacção patógeno X hospedeiro sejam idênticas nas diferentes situações (ecossistema agrícola, florestal, ou urbano), as condições particulares do ambiente urbano conduzem com frequência a alterações na forma como as doenças poderão ser controladas. Factores como elevados níveis de poluição atmosférica, condições microclimáticas diversas em zonas relativamente próximas e solos com características específicas (elevada compactação, baixo teor em matéria orgânica, entre outras) podem determinar a época do ano em que algumas doenças ocorrem, os períodos de disseminação das mesmas, bem como a sua severidade (HARRIS *et al.*, 2004). O controlo de doenças em árvores urbanas pode, assim, requerer formas de intervenção distintas das normalmente utilizadas em agricultura e florestas. Por exemplo, em ambiente urbano podem frequentemente tolerar-se níveis de ataque mais severos, ou determinadas

épocas e formas de intervenção têm que ser rejeitadas devido a aspectos relacionados com as funções para as quais o património arbóreo foi concebido, ou ainda devido a limitações de natureza ambiental, económica e até política.

No estudo da epidemiologia das doenças das culturas agrícolas e florestais, diferentes tipos de técnicas de amostragem têm sido utilizados com vista ao estudo da dinâmica de esporos na atmosfera (WILLIAMS *et al.*, 2001; FREEMAN *et al.*, 2002; SOBREIRO, 2002). Já em ambiente urbano este tipo de estudos é recente e diz respeito, sobretudo, a doenças que afectam a parte aérea das árvores, tais como oídios e antracnoses de folhosas (CHAUVEL, 1998). Em Portugal, o estudo das doenças que afectam espécies arbóreas em cidade tem visado essencialmente a identificação dos agentes causais e o conhecimento dos sintomas e estragos associados (e.g. RAMOS & CAETANO, 2004; RAMOS *et al.*, 2007), sendo escassos os trabalhos sobre aspectos epidemiológicos.

Desta forma, o presente trabalho teve como objectivo estudar a relação entre o estado fitossanitário de árvores em ambiente urbano e o transporte aéreo de fungos, utilizando dois métodos distintos de captura de esporos na atmosfera. Pretendeu-se ainda estudar a interacção entre as condições climáticas e a dinâmica dos esporos de fungos na atmosfera.

Material e métodos

Local de estudo

A actividade experimental decorreu no Jardim do Campo Grande, em Lisboa (38°76'N, 9°13'O). Neste local procedeu-se à captura de esporos de fungos e à avaliação do estado sanitário do coberto arbóreo do jardim, num total de 1330 exemplares pertencentes a mais de 60 espécies.

Para a caracterização climática do local utilizaram-se as normais climatológicas (1941-1970) da Estação Meteorológica de Lisboa / Ajuda, situada na Tapada da Ajuda (38°42'N, 9°11'O, 60 m alt.), considerando-se que para os fins deste estudo a Estação em causa é suficientemente representativa do clima da cidade de Lisboa. A temperatura média anual é de 16,9°C, sendo Janeiro o mês mais frio (média de 11,2°C) e Agosto o mais quente (22,8°C). A precipitação média anual é de 731,3 mm, com um período seco (precipitação em mm inferior a duas vezes a temperatura em °C) de Junho a Setembro, inclusive, durante o qual a precipitação média ascende apenas a 8,3% daquele total anual.

Recolha da informação

A recolha de estruturas de fungos foi levada a cabo de acordo com duas técnicas: captura de partículas atmosféricas (i. é, pólen e esporos) através de um capturador volumétrico do tipo Hirst e marca Lanzoni (modelo VPPS 2000 ® Lanzoni S. R. L.), e recolha de estruturas de fungos em lâminas de vidro cobertas com vaselina (lâminas-armadilha), seguindo a metodologia descrita por ESKALEN & GUBLER (2001). Estas amostragens foram efectuadas e/ou compiladas semanalmente, de Fevereiro a Junho de 2009.

O capturador de pólen foi instalado em Fevereiro de 2009 numa das extremidades do Jardim, e regulado para um fluxo de ar de 10 L h⁻¹, fixando as partículas atmosféricas contidas nesse fluxo numa fita transparente coberta com uma substância adesiva, com avanço regular, conforme descrito em Fabião *et al.* (neste volume). Após a substituição semanal, a fita

recolhida foi dividida em laboratório de acordo com os dias de amostragem, procedendo-se em seguida à montagem entre lâmina e lamela com corante adequado. Para a contagem e identificação de esporos nas lâminas do capturador escolheu-se, aleatoriamente, um dia por semana e 15 campos de observação por cada lâmina, utilizando uma ampliação de 400x. O número de esporos por m^3 foi calculado adaptando, com alterações, o procedimento descrito por FRENGUELLI (2003) e GÁLAN *et al.* (2007). Os esporos foram identificados segundo os critérios de ELLIS (1971; 1976), SUTTON (1980), HANLIN (1990; 1998) e BARNETT & HUNTER (1998).

Para detecção e identificação complementar de fungos, foram regularmente amostradas 20 lâminas-armadilha, distribuídas pelo Jardim do Campo Grande (Figura 1). Este foi dividido em quatro áreas de amostragem, de acordo com o plano de distribuição de serviço da Câmara Municipal de Lisboa para esta infraestrutura urbana, tendo sido amostradas 5 lâminas por área. As lâminas-armadilha foram recolhidas semanalmente, de 26 de Março a 25 de Junho, e processadas para isolamento de fungos de acordo com os procedimentos laboratoriais descritos por ESKALEN & GUBLER (2001).



Figura 1 - Lâmina-armadilha colocada em *Cupressus sempervirens*

A avaliação do estado fitossanitário do coberto arbóreo efectuou-se em Janeiro e Junho de 2009 por diagnóstico visual, complementado por diagnóstico etiológico sempre que necessário. Em complemento, acompanhou-se semanalmente o estado fitossanitário das árvores ao longo do período acima delimitado, aquando da substituição das lâminas-armadilha.

Resultados

Dinâmica de esporos na atmosfera – capturador volumétrico tipo Hirst

Para o período observado, a maior concentração de esporos na atmosfera verificou-se nos meses de Abril (1055 esporos/ m^3 no total) e Junho (983 esporos/ m^3 no total) (Figura 2), tendo-se registado o pico de captura de esporos mais importante no dia 18 de Abril (535 esporos/ m^3); este pico ocorreu no mês com o maior número de dias com precipitação (9 dias, 33 mm). Por outro lado, a menor concentração de esporos foi observada no decurso do mês de Março (419 esporos/ m^3 no total) coincidindo com o mês menos pluvioso (10,7 mm).

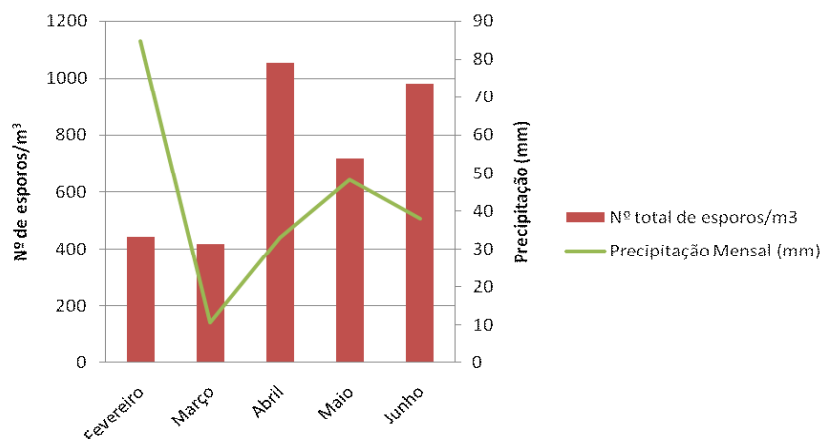


Figura 2 - Número total de esporos capturados por mês e precipitação mensal, de Fevereiro a Junho de 2009

A ocorrência de esporos na atmosfera ao longo do dia mostrou-se errática nos meses observados, ainda que cerca de 60% das capturas se tenham registado entre as 21h00 e as 7h30, com excepção para o mês de Maio em que o maior volume de capturas se registou às 12h00 (Figura 3).

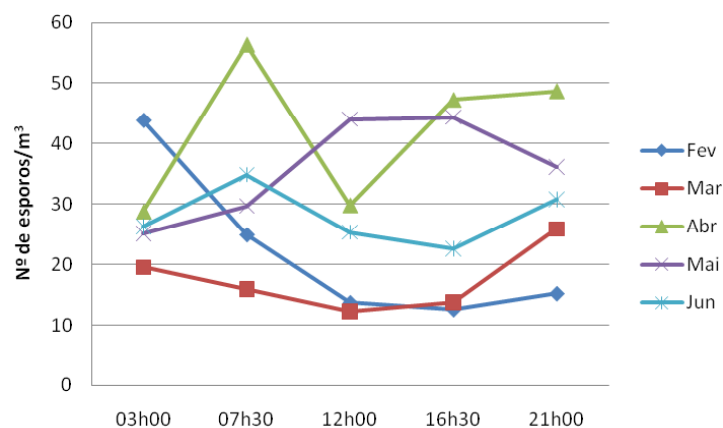


Figura 3 - Concentração média de esporos ao longo do dia (03h00, 07h30, 12h00, 16h30 e 21h00), para todas as semanas de Fevereiro a Junho de 2009

Ao longo das contagens foi possível identificar esporos pertencentes a 24 géneros de fungos, além de se ter registado a presença de esporos de diversos ascomicetas e basidiomicetas, bem como um conjunto de esporos cujas características morfológicas não permitiram a sua identificação sistemática. A frequência com que os vários géneros estiveram presentes foi variável ao longo do tempo (dados não incluídos), embora se destaquem os fungos pertencentes a *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e diversos basidiomicetas. Já no mês de Junho foi evidente o aumento significativo do número de esporos pertencentes a *Bipolaris* sp. bem como a ferrugens, nomeadamente do tipo *Puccinia*. De referir ainda que, no conjunto de esporos assinalados como "Outros" se destacam esporos cujas características morfológicas se assemelham às descritas para fungos dos géneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

Dinâmica de esporos na atmosfera – lâminas-armadilha

A partir das lâminas-armadilha colocadas em 20 árvores dispersas pela área do Jardim do Campo Grande (1 lâmina/árvore) identificaram-se colônias de fungos pertencentes a 38 gêneros diferentes; obtiveram-se ainda diversas colônias cuja identificação sistemática não foi possível. De entre os fungos identificados, distinguem-se pela frequência e abundância com que apareceram ao longo das várias semanas, os pertencentes aos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Destacam-se ainda *Botryosphaeria* sp., *Cytospora* sp., *Gliocladium* sp. e *Phomopsis* sp. (Figura 4), gêneros igualmente importantes por incluírem espécies potencialmente fitopatogênicas em árvores (e. g. *Cytospora chrysosperma* e *Gliocladium vermoeseni*), e que são referidas como causa de doenças alérgicas (e. g. *Alternaria alternata*). Para o período em estudo o inóculo de *Cytospora* sp. registou um incremento acentuado a partir de meados de Abril (4ª semana), verificando-se uma tendência para o aumento de inóculo na atmosfera após a ocorrência de precipitação. Já *Phomopsis* sp. só esteve presente a partir do final de Abril (5ª semana) sendo também a partir desta data que a presença de *Botryosphaeria* sp. se fez notar. Por outro lado, o inóculo de *Gliocladium* sp., sendo claramente inferior ao dos fungos anteriores, só esteve presente durante os meses de Abril e Maio (da 2ª à 8ª semana).

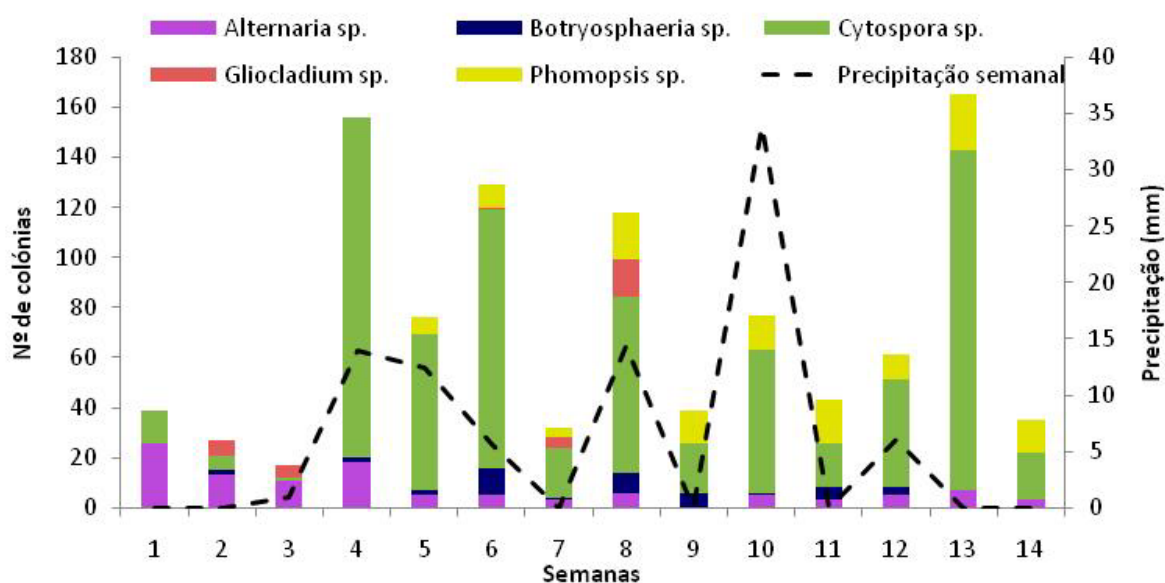


Figura 4 - Número de colônias de fungos capturados com recurso a lâminas-armadilha, e precipitação semanal, ao longo de 14 semanas, de Março a Junho de 2009

Estado fitossanitário do coberto arbóreo

Na sequência da avaliação do estado fitossanitário do coberto arbóreo do Jardim, detectou-se a presença de doenças em diversas espécies lenhosas, de entre as quais se destacam podridões causadas por basidiomicetas (e. g. *Phellinus torulosus* em eucaliptos e *Inonotus hispidus* em plátanos), cancos (e. g. cancro do choupo causado por *Cytospora chrysosperma* e cancro cortical dos ciprestes devido a *Seiridium cardinale*), oídios (e. g. *Erysiphe platani* em plátanos

e *E. flexuosa* em castanheiro-da-Índia), antracnose (*Apiognomonia veneta* em plátanos) e podridão rosa das palmeiras causada por *Gliocladium vermoesinii*. Os sintomas destas doenças foram visíveis a partir de início de Abril, com excepção da podridão rosa das palmeiras e dos oídios cujos sintomas só apareceram em meados de Maio.

Discussão

As duas técnicas de captura de esporos utilizadas no presente estudo revelaram a presença preponderante de esporos de *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. e *Penicillium* sp., na atmosfera da zona monitorizada, tendo ainda sido identificado um leque variado de outros fungos potencialmente fitopatogénicos em árvores urbanas.

Cada uma das técnicas apresenta restrições quanto ao tipo de fungos que podem ser detectados e identificados. Segundo KENDRICK (1990) a presença de esporos de *Aspergillus* e de *Penicillium* no ar é muito importante, sendo no entanto praticamente impossível determinar a qual dos géneros pertencem recorrendo apenas à identificação microscópica, aquando das contagens na fita do captador volumétrico. Por outro lado, se com base no captador se podem detectar e identificar esporos de diversos basidiomicetas (quer macromicetas quer ferrugens), estes fungos são de identificação difícil ou impossível (para os parasitas obrigatórios) a partir das lâminas-armadilha.

A produção e a maturação das frutificações dos fungos têm lugar perante a ocorrência de determinados parâmetros que incluem temperatura, humidade relativa, presença de água sobre as superfícies onde se encontram, nº de horas de luz, entre outras (AGRIOS, 2005). Assim, a libertação de esporos na atmosfera, sejam de natureza sexuada ou assexuada, ocorre de forma muito variável de espécie para espécie. Por exemplo, SUHERI & PRICE (2001) ao estudarem a epidemiologia da mancha vermelha do alho-francês registaram as maiores capturas de conídios de *Stemphylium vesicarium* quando no dia anterior ocorriam no mínimo 10 horas consecutivas de precipitação ou humidade relativa do ar superior a 90%. Desta forma, é compreensível que certos fungos sejam mais frequentes durante determinadas épocas, ao passo que alguns géneros e/ou espécies podem ser encontrados na atmosfera durante praticamente todo o ano. Parâmetros como a temperatura e a precipitação afectam igualmente a ocorrência de esporos na atmosfera ao longo do dia (Prados-Ligero *et al.*, 2003).

As contagens de esporos na atmosfera excedem, frequentemente, os 4000 esporos/m³/semana (isto é, um valor médio semanal superior a 4000 esporos/m³), tendo já sido registados 2000 esporos de *Cladosporium* sp./m³/semana e 1000 esporos de *Alternaria* sp./m³/semana, em ambientes confinados como habitações ou ambientes industriais (ANDERSON, 1985). Na cidade de Lisboa, no decurso de 1999, as contagens de partículas na atmosfera para efeitos de elaboração de mapas polínicos revelaram valores que variam entre 4 e 255 esporos de fungos/m³/semana, para o período de Março a Junho (SPAIC, 1999). Ao final de cinco meses, as contagens de esporos na zona do Campo Grande revelaram números que variaram de 182 esporos/m³ a 3745 esporos/m³, por semana, o que poderá estar relacionado com a proximidade do coberto arbóreo do jardim e zonas envolventes.

Apesar do curto período de observação, parece existir uma relação entre a ocorrência de esporos na atmosfera do local e algumas das doenças assinaladas no arvoredo. Por exemplo, a elevada incidência de cancro do choupo causado por *C. chrysosperma* poderá estar na origem do aparecimento de grande número de esporos no captador e de colónias de *Cytospora* sp. nas lâminas-armadilha.

De referir ainda que se detectaram grande número de esporos de fungos conhecidos pelo seu potencial alergizante, onde se destacam os mitosporicos pertencentes aos géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Segundo COSENTINO *et al.* (1995) o número de pessoas com reacções alérgicas a *Alternaria* spp. é maior do que a *Cladosporium* spp. Contudo, segundo VIJAL *et al.* (1991), o género *Cladosporium* é o que mais contribui para a elevada concentração de esporos na atmosfera sendo, consequentemente o principal agente etiológico de asma alérgica no homem.

Parece poder concluir-se, assim, que a monitorização da presença de esporos de fungos na atmosfera dos meios urbanos e a sua identificação constituem uma informação com relevância em duas vertentes principais: a relação com o estado fitossanitário das árvores ornamentais (com eventuais consequências nas suas dinâmicas de formação e libertação de pólen) e o potencial dos próprios esporos para actuarem como agentes alergizantes. Por outro lado, o conhecimento do estado sanitário das árvores e a possibilidade de monitorizar a ocorrência de alguns dos seus patogéneos podem contribuir para o estabelecimento de melhores critérios de selecção, gestão e manutenção das árvores urbanas, no sentido de procurar garantir que o estado sanitário destas tenha reflexos positivos na saúde pública.

Agradecimentos

O Projecto em cujo âmbito se insere o presente artigo é financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), referência PTDC/AMB/64929/2006.

Referências Bibliográficas

- ANDERSEN, A., 1985. Micro fungi in beds and their relation to house dust mites. *Grana* **24**: 55-59.
- AGRIOS, G., 2005. *Plant Pathology*, 5th Edition. Academic Press. California.
- BARNETT, H.L., HUNTER, B.B., 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 4th Edition. The American Phytopathological Society. Minnesota.
- CHAUVEL, G., 1998. Stratégies de protection des arbres d'ornement en ville. Comment déterminer et utiliser les « seuils d'intervention » ? *Phytoma-La Défense des Végétaux* **505**: 20-27.
- COSENTINO, S., FADDA, M.E., PALMAS, F., 1995. Pollen and mould allergy in Southern Sardinia (Italy). Comparisons of skin-test frequencies and air sampling data. *Grana* **34**: 338-344.
- ELLIS, M.B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Slough.
- ELLIS, M.B., 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Slough.
- ESKALEN, A., GUBLER, W.D., 2001. Association of spores of *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium inflatipes*, and *Pm. aleophilum* with grapevine cordons in California. *Phytopathologia Mediterranea* **40**: S429-S432.
- FREEMAN, J., WARD, E., CALDERON, C., MCCARTNEY, A., 2002. Polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of inoculums of *Sclerotinia sclerotiorum*. *European Journal of Plant Pathology* **108**: 877-886.
- FRENGUELLI, G., 2003. Basic microscopy, calculating the field of view, scanning of slides, sources of error. *Postepy Dermatologii i Alergologii* **XX** **4**: 227-229.
- GALÁN, C., CARÍÑANOS, P., ALCÁZAR, P., DOMÍNGUEZ, E., 2007. *Spanish Aerobiology Network (REA): Management and Quality Manual*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba.
- HANLIN, R.T., 1990. *Illustrated Genera of Ascomycetes*. Vol. I. The American Phytopathological Society. Minnesota.

- HANLIN, R.T., 1998. *Illustrated Genera of Ascomycetes*. Vol. II. The American Phytopathological Society. Minnesota.
- HARRIS, R.H., CLARK, J.R., MATHENY, N.P., 2004. *Arboriculture: Integrated Management of Landscape Trees, Shrubs and Vines*. 4th Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey.
- KENDRICK, B., 1990. Fungal allergens. In *Sampling and identifying allergenic pollens and moulds*. Ed. E.G. Smith, Blewstone Press, San Antonio, 41-49.
- PRADOS-LIGERO, A.M., MELERO-VARA, J.M., CORPAS-HERVIAS, C., BASALLOTE-UREBA, M.J., 2003. Relationships between weather variables, airborne spore concentrations and severity of leaf blight of garlic caused by *Stemphylium vesicarium* in Spain. *European Journal of Plant Pathology* **109**: 3001-310.
- RAMOS, A.P., CAETANO, M.F., MELO, I., 2007. *Inonotus rickii* (Pat.) Reid: an important legnicolous basidiomycete in urban trees. *Revista de Ciências Agrárias* **31**: 159-167.
- RAMOS, P., CAETANO, M.F., 2004. Podridão rosa das palmeiras causada por *Gliocladium vermoeseni*. Um perigo potencial para as palmeiras em Portugal. In *4º Congresso da Sociedade Portuguesa de Fitopatologia*. 4 a 6 de Fevereiro, Faro, 160-164.
- SOBREIRO, J.A.V., 2002. Desenvolvimento de um sistema pericial para o pedrado da pereira (*Venturia pyrina*) na região do Oeste. Tese de Doutoramento. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- SPAIC [Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica], 1999. *Calendário Polínico para a cidade de Lisboa*. SPAIC, Lisboa.
- STRANGE, R.S., 2003. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley and Sons Ltd. England, Chichester.
- SUHERI, H., PRICE, T.V., 2001. Epidemiology of purple leaf blotch of leek in Australia. *European Journal of Plant Pathology* **107**: 503-510.
- SUTTON, B.C., 1980. *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Slough.
- VIJAL, H.M., BURTON, M., YOUNG, N.M., CORLETT, M., 1991. Allergic components of isolates of *Cladosporium herbarum*. *Grana* **30**: 161-165.
- WILLIAMS, R.H., WARD, E., MCCARTNEY, H.A., 2001. Methods for integrated air sampling and DNA analysis for detection for airborne fungal spores. *Applied and Environmental Microbiology* **67**: 2453-2459.